

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年12 月13 日 (13.12.2001)

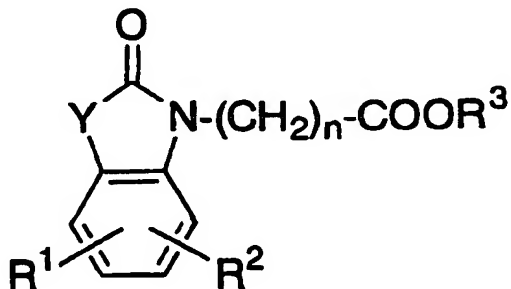
PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/94311 A1

- (51) 国際特許分類: C07D 209/34, 235/26, 263/58, 277/68, A61K 31/404, 31/4184, 31/423, 31/428, A61P 43/00, 13/12, 25/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/04796
- (22) 国際出願日: 2001 年6 月7 日 (07.06.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2000-172353 2000 年6 月8 日 (08.06.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ウェルファイド株式会社 (WELFIDE CORPORATION) [JP/JP]; 〒541-0046 大阪府大阪市中央区平野町二丁目6番9号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 足森厚之 (ASHIMORI, Atsuyuki) [JP/JP]. 保理江智 (HORIE, Satoshi) [JP/JP]. 高梨真一 (TAKANASHI, Shinichi) [JP/JP]; 〒358-0026 埼玉県入間市小谷田三丁目7番25号 ウェルファイド株式会社 創薬研究所内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 庄司 隆(SHOJI, Takashi); 〒101-0032 東京都千代田区岩本町3丁目2番10号 SN岩本町ビル6階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CYTOPROTECTORS

(54) 発明の名称: 細胞保護剤



(I)

(57) Abstract: Novel cytoprotectors are provided which contain as the active ingredient compounds of the general formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof wherein Y is CH₂, S, O, CO, or NR⁴; n is an integer of 1 to 10; R¹ and R² are each H, alkyl, OH, alkoxy, halogeno, nitro, amino, or trifluoromethyl; R³ is H or alkyl; and R⁴ is H, alkyl, or aralkyl.

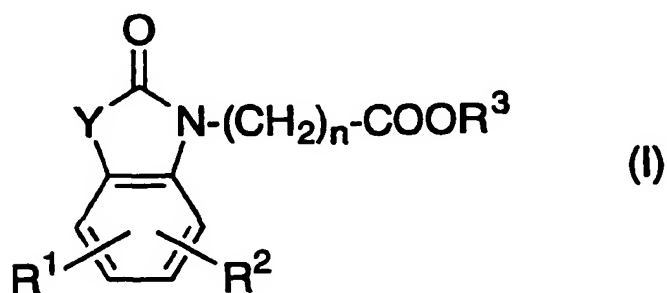
[続薬有]

WO 01/94311 A1



(57) 要約:

新規な細胞保護剤を提供する。一般式 (I) で表わされる化合物、または、その薬学上有効な塩を有効成分とする細胞保護剤。



(式中、YはCH₂、S、O、COまたはNR⁴を、nは1～10の整数を、R¹、R²は各々H、アルキル、OH、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、アミノまたはトリフルオロメチルを、R³はHまたはアルキルを、R⁴はH、アルキルまたはアラルキルを表す)

明細書

細胞保護剤

5 技術分野

本発明は細胞保護剤に関し、更に詳しくは、細胞保護剤、特に脳細胞、神経細胞、腎細胞の保護に有用な薬剤に関する。

背景技術

- 10 最近、細胞死の概念として、アポトーシスという形が注目されている。アポトーシス (a p o p t o s i s、アポプトーシスともいう) とは、細胞の自滅あるいは自死の意味である。このアポトーシスは病理的細胞死である壊死 (ネクローシス) とは異なり、
15 遺伝情報として組み込まれた細胞自身の能動的な死であると考えられている。すなわち、何らかの外部的または内部的な要因が引き金となって、アポトーシスを誘導するシグナルが活性化され、細胞自身が能動的に崩壊し、死に到ると考えられている。特に神経 (脳) 細胞死とアポトーシスの関係が注目されている (特開平 8-277222)。

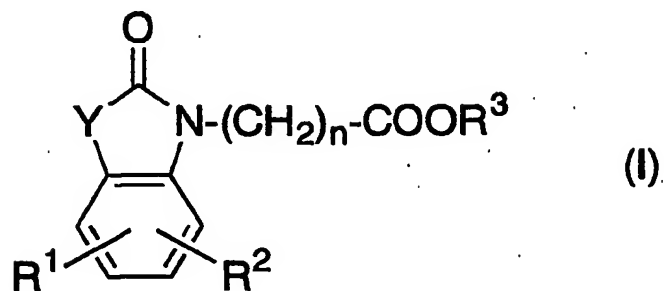
20

発明の開示

本発明の目的は、細胞保護 (アポトーシス抑制) 作用に優れた医薬品を提供することにある。

- 25 また本発明者らは上記の事情を考慮してさらに研究を進めた結果、特定の構造を有する一群の化合物が優れた細胞保護作用を有することを見出して、本発明を完成した。

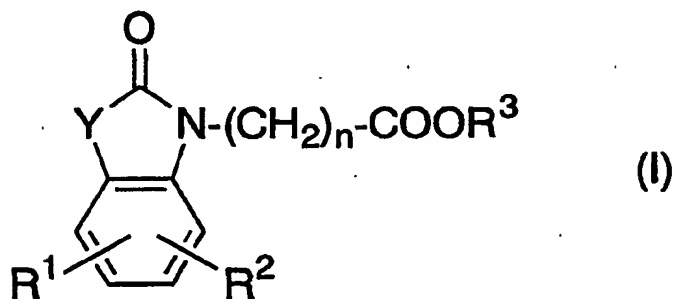
本発明は、一般式(I)で表される化合物、又は、その塩を有効成分とする細胞保護剤に関する。



- 5 (式中、YはCH₂、S、O、COまたはNR⁴を、nは1～10の整数を、R¹、R²は各々H、アルキル、OH、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、アミノまたはトリフルオロメチルを、R³はHまたはアルキルを、R⁴はH、アルキルまたはアラルキルを表す)
- 10 以下に詳細を説明する。

発明を実施するための最良の形態

本発明、細胞保護剤の有効成分は、一般式(I)で表される化合物又はその薬学上有効な塩である。



(式中、YはCH₂、S、O、COまたはNR⁴を、nは1～10の整数を、R¹、R²は各々H、アルキル、OH、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、アミノまたはトリフルオロメチルを、R³はHまたはアルキルを、R⁴はH、アルキルまたはアラルキルを表す)

一般式(I)中のより好ましい化合物としてはYがCH₂またはSであり、nが4～8の整数であり、R¹、R²がHの化合物である。

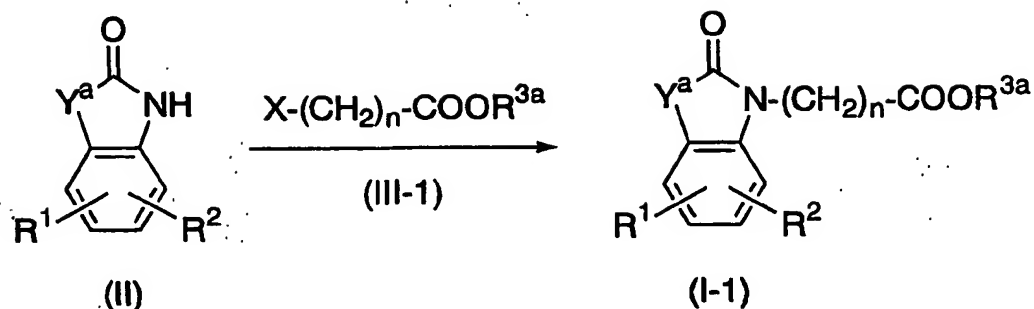
10

アルキルとしては炭素数1～6の、直鎖状、分岐鎖状のいずれでもよく、例えばメチル、エチル、n-プロピル、iso-プロピル、n-ブチル、iso-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシルなどである。アルコキシとしては炭素数1
15 ～6の、直鎖状、分岐鎖状のいずれでもよい。例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、iso-プロポキシ、n-ブトキシ、iso-ブトキシ、tert-ブトキシ、n-ペントキシ、n-ヘキシルオキシなどである。アラルキルはアリル部とアルキル部からなり、ア
20 リル部としては炭素数6～10のアリルが挙げられる。例えば、フェニル、ナフチルなどである。アルキル部は前記のアルキルと同意義である。ハロゲンとしては、塩素、臭素、ヨウ素、フッ素などである。

本発明の化合物の合成方法を以下に例示す。

25

合成方法 - 1 :



(式中、 Y^a は S、O、CO または NR^4 を、 R^{3a} はアルキル
 5 を、X は脱離基を、n、 R^1 、 R^2 、 R^4 は、前記と同意義である。)

化合物 (III-1) に於ける、 R^{3a} のアルキルは前記と同
 意義である。X は脱離基を示す。具体的にはハロゲン、スルホニ
 ルオキシ基が挙げられる。ハロゲンは前記と同意義である。また、
 10 スルホニルオキシ基としては、例えばメタンスルホニルオキシ、
 トルエンスルホニルオキシ、ベンゼンスルホニルオキシなどであ
 る。

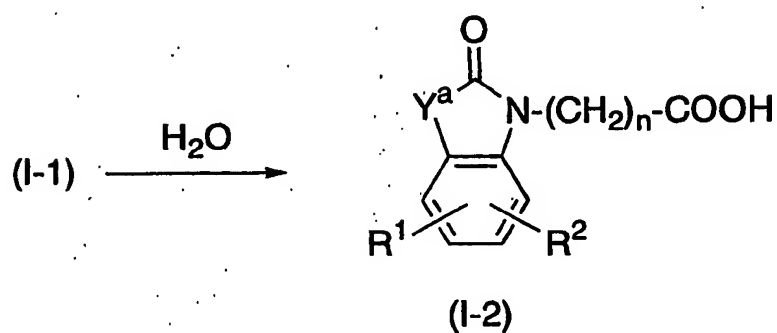
当該反応はアミノ基をアルキル化する工程である。すなわち、
 15 化合物 (II) を化合物 (III-1) と、塩基の存在下で反応
 させ、化合物 (I-1) を合成する。

この反応に用いる塩基としては、水酸化アルカリ金属 (水酸化
 ナトリウム、水酸化カリウムなど)、水酸化アルカリ土類金属 (水
 20 酸化マグネシウム、水酸化カルシウムなど)、炭酸アルカリ金属
 (炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなど)、炭酸アルカリ土類金属

(炭酸マグネシウム、炭酸カルシウムなど)、炭酸水素アルカリ
 金属(炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムなど)などの無機
 塩基、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、2, 2,
 6, 6-テトラメチルピペリジン、ピリジン、4-ジメチルアミ
 5 ノピリジン、1, 5-ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデセン
 などの有機塩基が挙げられる。

当該反応は通常、不活性溶媒中で行い、用いられる不活性溶媒
 としては、アセトン、クロロホルム、ベンゼン、トルエン、テト
 10 ラヒドロフラン、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスル
 ホキシドなどが挙げられる。当該反応温度は特に限定されないが、
 通常、室温または加熱下で行う。

合成方法 - 2 :

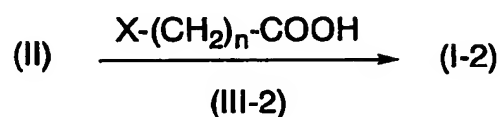


(式中、 Y^a 、 n 、 R^1 、 R^2 は前記と同意義である。)

化合物 (I-1) を加水分解することにより遊離のカルボン酸
 20 (I-2) を合成することができる。例えば、水酸化リチウム、

水酸化ナトリウムもしくは水酸化カリウムなどを用いて塩基性加水分解するか、塩酸もしくは硫酸などを用いて酸性加水分解する等の公知の手法を用いる。

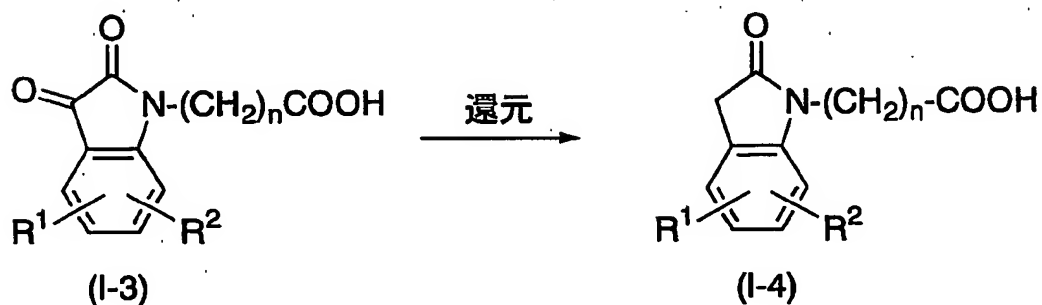
5 合成方法－3：



(式中、X、nは前記と同意義である。)

- 10 化合物 (I I) と化合物 (I I I - 2) を用い、合成方法－1と同じ条件で反応させることにより、直接、遊離のカルボン酸 (I - 2) を合成することもできる。

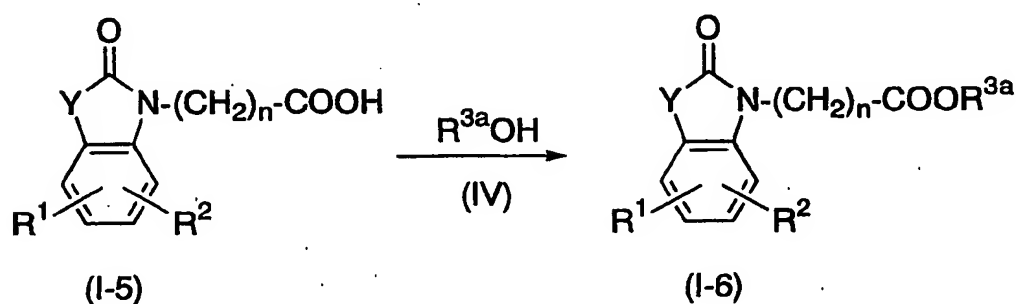
合成方法－4：



(式中、n、R¹、R²は前記と同意義である。)

2, 3-ジオキシインドール体 (I-3) のケトン基を還元して2-オキシインドール体 (I-4) を合成する。この還元は、公知の方法で行なうことができ、例えば、パラジウム炭素、酸化白金、ラネーニッケルなどの触媒を用いた接触水素還元、ルイス酸存在下で、水素化ホウ素ナトリウムなどによる還元、ルイス酸もしくはトリフルオロ酢酸存在下でのシラン還元、ヒドラジンなどを用いたWolff-Kishner還元などを利用することができる。

10 合成方法-5:



(式中、Y、n、R¹、R²、R^{3a} は前記と同意義である。)

15 遊離のカルボン酸 (I-5) をアルコール体 (IV) と反応させてエステル体 (I-6) を合成する。エステル化自体は公知であり、酸ハライドなどの活性誘導体へ変換した後に、反応させるか、あるいは、適当な縮合剤の存在下で当該反応させることによりエステル体に変換する。

20

この反応に用いられる縮合剤は公知のものを利用できる。具体

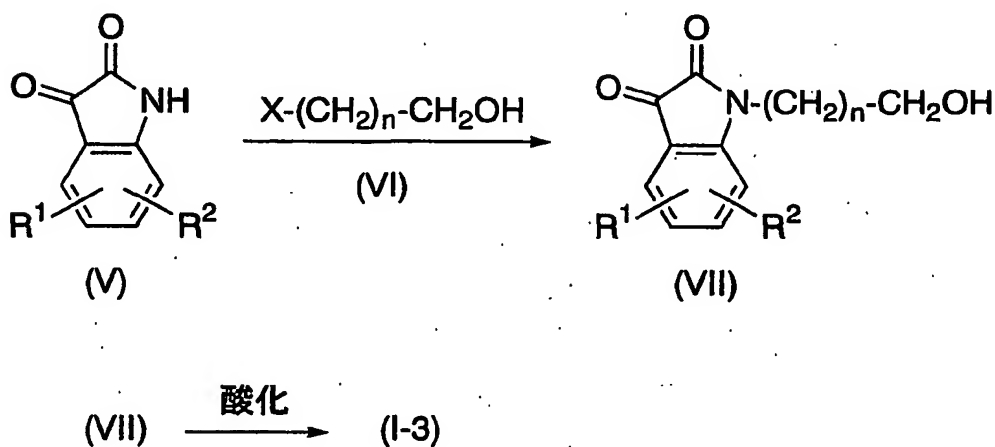
的には、ジシクロヘキシルカルボジイミド、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン、ジエシルホスホリルシアニドなどがある。

5

エステル化反応は、通常、不活性溶媒中で行い、用いる溶媒としては非プロトン性であれば特に限定されない。具体的には、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、N,N-ジメチルホルムアミドなどがある。

10

合成方法-6



(式中、X、n、R¹、R² は前記と同意義である。)

15

この合成方法の第1工程は、化合物(V)と化合物(VI)とを、合成方法-1と同じ条件で反応させ、化合物(VII)を合成するものである。また、第2工程は、化合物(VII)のアル

コール部分を酸化して遊離のカルボン酸（I-3）を合成するものである。酸化反応としては公知の手法が利用できる。具体的には、TEMPO（2, 2, 6, 6-テトラメチルピペリジン 1-オキシル、フリーラジカル）／次亜塩素酸塩、過マンガン酸カリウム、酸化クロム、酸化ルテニウム／過ヨウ素酸塩などを用いて行うことができる。

これらの化合物は、公知の手法に準じて調製することもできる。

（USP 5 3 2 2 9 5 0、同 5 3 8 9 6 6 1、特開昭 5 6 - 9 7
2 6 8、同 5 7 - 1 0 8 0 7 4、同 6 2 - 1 8 7 4 5 2）

本発明における薬学上有効な塩としては、上記化合物のアルカリ土類金属塩、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩など、アルカリ金属塩、例えば、カルシウム塩、アミノ化合物との塩、例えば、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン、N-メチルグルカミシなどがある。これらの塩は公知の手法に準じて調製することができる。例えば、1位に遊離のカルボン酸を有する本発明の化合物は、塩を形成するための水酸化物（例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム等）と水溶液中で共存させることにより、形成することができる。また、本発明の化合物は水和物でもよい。

本発明の化合物は公知の手法に準じて製剤化することができる。例えば、固形製剤、液剤を調製できる。固形剤としては、散剤、錠剤、カプセル剤等が挙げられる。また、液剤としてはエタノール液剤、シクロデキストリン包接体、リポソーム、脂肪乳剤

等が挙げられる。

本発明の化合物は、優れたアポトーシス抑制作用を有することから、細胞、特に脳細胞、神経細胞あるいは腎細胞のアポトーシスを抑え、細胞保護剤として有用である。従って、これらの化合物は、神経疾患、神経変性を伴う疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏病、筋萎縮性側索硬化症、脊柱管狭窄症、あるいは腎炎、腎不全、糸球体腎炎、ネフローゼ症候群などの腎疾患などの予防ならびに治療に有用である。

投与経路としては、経口、非経口のいずれでもよい。投与量は、患者の性別、年齢、病状、体重などに応じて適宜増減することができる。通常は成人1日当たり、0.1～100mg程度、好ましくは0.1～1000μgである。

本発明をより詳細に説明するために、以下に実施例そして、化合物の製造例、製剤例および薬効試験例を挙げるが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。実施例1～12に示す%は収率である（特に断りがない場合）。実施例17に示すエタノール水溶液の%および実施例21に示すグルタルアルデヒド溶液の%はv/v%である。また、実施例21に示すアポトーシス誘導抑制率の%は全ての細胞がアポトーシスを誘導した場合を0%、全ての細胞においてアポトーシスが誘導されなかった場合を100%としたときの、測定結果を百分率で表したものである。

実施例 1

6-(2,3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)へ

キサン酸の合成

(1) イサチン (2.16 g、14.7 mmol)、炭酸カリウム (6.15 g、44.5 mmol) および DMF (21 mL) の混合物に、室温で 6-ブロモヘキサン酸エチル (3.14 mL、17.6 mmol) を滴下した。得られた混合物を室温で 47 時間 5 間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン-酢酸エチル) により分離精製し、6-(2,3-ジヒドロ-2,3-ジオキソインドール-1-イル)ヘキサン酸エチルを橙色の油状物質として 4.29 g (100%) 得た。 10

(2) (1) で得られた化合物 (4.29 g、15.2 mmol) のエタノール (59 mL) 溶液に 0.5 M 水酸化ナトリウム 15 水溶液 (45 mL) を氷冷下で滴下した。得られた混合液を室温で 6 時間攪拌後、氷冷し、塩酸で約 pH 2 とした後、クロロホルムで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により分離精製し、6-(2,3-ジヒドロ-2,3-ジオキソインドール-1-イル)ヘキサン酸を橙色の固体として 1.68 g (43%) 得た。 20

(3) (2) で得られた化合物 (1.68 g、6.43 mmol) にヒドラジン 1 水和物 (13 mL) を加え、50 分間加熱還 25 流した。反応液を氷冷し、濃塩酸で酸性とした後、クロロホルムで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥後、減圧濃縮し

た。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール）で分離精製した後、クロロホルム-ヘキサンより再結晶し、表題化合物を白色結晶として974mg（61%）得た。

5

mp 136.5~137.5°C（クロロホルム-ヘキサン）

$^1\text{H-NMR}$ （400MHz, CDCl_3 ） δ : 1.43（m, 2H）, 1.70（m, 4H）, 2.36（t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H）, 3.53（s, 2H）, 3.72（t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H）, 6.83（d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H）, 7.03（t, $J=7.3\text{Hz}$, 1H）, 7.20~7.32（m, 2H）

10

MS（FAB⁺） m/z : 248（ MH^+ ）

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ について

理論値: C, 68.00; H, 6.93; N, 5.66

15

実測値: C, 67.64; H, 6.98; N, 5.62

実施例 2

7-（2,3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル）ヘプタン酸の合成

20 7-ブロモヘプタン酸エチル（17.7g、74.7mmol）

を用いる以外は、実施例1と同様の反応により、表題化合物を淡黄色結晶として11.3g（通算収率66%）得た。

mp 56~57°C（酢酸エチル-ジイソプロピルエーテル）

25 $^1\text{H-NMR}$ （400MHz, CDCl_3 ） δ : 1.25~1.50（m, 4H）, 1.50~1.80（m, 4H）, 2.32（t,

$J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.51 (s, 2H), 3.68 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 6.80 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 7.01 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.20 ~ 7.35 (m, 2H)

5 MS (EI) m/z : 261 (M^+)

$C_{15}H_{19}NO_3$ について

理論値: C, 68.94; H, 7.33; N, 5.36

実測値: C, 68.95; H, 7.29; N, 5.35

10 実施例 3

5-(2,3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル)ペンタン酸の合成

5-ブロモペンタン酸エチル (8.53 g, 40.8 mmol)

を用いる以外は、実施例 1 と同様の反応により、表題化合物を淡

15 黄色結晶として 3.02 g (通算収率 61%) 得た。

m.p. 98 ~ 99 °C (酢酸エチル-ヘキサン)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.60 ~ 1.8

20 5 (m, 4H), 2.42 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, 2H), 3.53 (s, 2H), 3.74 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, 2H), 6.83 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1H), 7.03 (t, $J = 8 \text{ Hz}$, 1H), 7.20 ~ 7.45 (m, 2H)

MS (EI) m/z : 233 (M^+)

$C_{13}H_{15}NO_3$ について

25 理論値: C, 66.94; H, 6.48; N, 6.00

実測値: C, 66.71; H, 6.39; N, 5.88

実施例 4

4 - (2, 3 - ジヒドロ - 2 - オキシインドール - 1 - イル) プ
タン酸の合成

4 - プロモブタン酸エチル (2.43 mL, 17.0 mmol)
5 を用いる以外は、実施例 1 と同様の反応により、表題化合物を白
色結晶として 1.51 g (通算収率 49%) 得た。

mp 129 ~ 130 °C (クロロホルム - ヘキサン)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.02 (m, 2
10 H), 2.47 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.55 (s, 2
H), 3.81 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 6.91 (d, J
= 7.8 Hz, 1H), 7.05 (t, J = 7.4 Hz, 1H),
7.22 ~ 7.34 (m, 2H)

MS (FAB⁺) m/z: 220 (MH⁺)

15 C₁₂H₁₃NO₃ について

理論値: C, 65.74; H, 5.98; N, 6.39

実測値: C, 65.46; H, 5.95; N, 6.36

実施例 5

20 3 - (2, 3 - ジヒドロ - 2 - オキシインドール - 1 - イル) プ
ロピオン酸の合成

(1) イサチン (2.09 g, 14.2 mmol)、炭酸カリ
ウム (5.94 g, 43.0 mmol) および DMF (20 mL)
の混合物にアクリル酸エチル (2.40 mL, 22.1 mmol)
25 を加え、80 ~ 85 °C で 2.5 時間攪拌した。反応液を氷冷し、
水を加え、酢酸エチルで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、

乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン-酢酸エチル）により分離精製し、3-（2, 3-ジヒドロ-2, 3-ジオキソインドール-1-イル）プロピオン酸エチルを橙色の油状物質として451mg（13%）得た。

- 5 (2)(1) で得られた化合物（449mg、1.82mmol）を用い、実施例1（2）、（3）と同様の反応により、表題化合物を微黄色結晶として215mg（通算収率33%）得た。

mp 153~155℃（クロロホルム-ヘキサン）

- 10 $^1\text{H-NMR}$ （400MHz, CDCl_3 ） δ : 2.77（t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H）, 3.54（s, 2H）, 4.03（t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H）, 6.92（d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H）, 7.05（t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H）, 7.18~7.35（m, 2H）

- 15 MS（FAB $^+$ ） m/z : 206（ MH^+ ）

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ について

理論値: C, 64.38; H, 5.40; N, 6.83

実測値: C, 64.39; H, 5.46; N, 6.84

20 実施例6

8-（2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル）オクタン酸の合成

- (1) イサチン（2.07g、14.1mmol）、炭酸カリウム（5.88g、42.5mmol）およびDMF（20mL）
25 の混合物に8-ブロモ-1-オクタノール（3.61mL、21.1mmol）を加え、室温で13時間攪拌した。反応液に水を加

え、酢酸エチルで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサンー酢酸エチル）により分離精製し、8-（2, 3-ジヒドロ-2, 3-ジオキソインドール-1-イル）オクタン-1-オールを濃橙色の固体として2.71 g（70%）得た。

（2）（1）で得られた化合物（2.61 g、9.46 mmol）、塩化トリオクチルメチルアンモニウム（26 mg、0.064 mmol）のジクロロメタン（57 mL）溶液に、氷冷下で臭化カリウム（226 mg、1.90 mmol）の水溶液（4.7 mL）およびTEMPO（25 mg、0.12 mmol）を加えた。得られた混合物に、氷冷下で次亜塩素酸ナトリウム水溶液（1.37 M、15.9 mL）、炭酸水素ナトリウム（2.44 g、29.0 mmol）および水（15.9 mL）からなる溶液を滴下した。得られた混合物を氷冷下で50分間攪拌した後、1 M塩酸で酸性とし、ジクロロメタンで抽出した。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルムーメタノール）により分離精製し、8-（2, 3-ジヒドロ-2, 3-ジオキソインドール-1-イル）オクタン酸を橙色の固体として1.48 g（54%）得た。

（3）（2）で得られた化合物（1.48 g、5.11 mmol）を用い、実施例1（3）と同様の反応により、表題化合物を淡黄色の結晶として470 mg（33%）得た。

mp 76~80℃（エーテル）

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.36 (br s, 6 H), 1.65 (m, 4 H), 2.34 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2 H), 3.53 (s, 2 H), 3.70 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2 H), 6.83 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1 H), 7.03 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1 H), 7.22 ~ 7.32 (m, 2 H)

MS (FAB⁺) m/z : 276 (MH^+)

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ について

理論値: C, 69.79; H, 7.67; N, 5.09

実測値: C, 69.47; H, 7.68; N, 5.11

10

実施例 7

9-(2,3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル)ノナン酸の合成

9-ブロモ-1-ノナノール (3.20 mL, 17.3 mmol) を用いる以外は実施例 6 と同様の反応により、表題化合物を微黄色結晶として 1.10 g (通算収率 26%) 得た。

mp 62 ~ 63 °C (エーテル)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.33 (m, 8 H), 1.64 (m, 4 H), 2.34 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2 H), 3.53 (s, 2 H), 3.70 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2 H), 6.83 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1 H), 7.03 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 1 H), 7.20 ~ 7.32 (m, 2 H)

MS (FAB⁺) m/z : 290 (MH^+)

25 $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ について

理論値: C, 70.56; H, 8.01; N, 4.84

実測値：C, 70.26; H, 8.11; N, 4.79

実施例 8

7-(2,3-ジヒドロ-5-メトキシ-2-オキソインドール-1-イル)ヘプタン酸の合成

Bartlettらの方法(J. Am. Chem. Soc., 80, 126~136, 1958)により合成した5-メトキシイサチン(1.70g, 9.60mmol)を用い、実施例2と同様の反応により、表題化合物を淡黄色結晶として893mg (通算収率32%)得た。

mp 116~117°C (クロロホルム-ヘキサン)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.30~1.40 (m, 4H), 1.55~1.70 (m, 4H), 2.33 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H); 3.48 (s, 2H), 3.65 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 3.77 (s, 3H), 6.70 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 6.77 (dd, $J=8.3\text{Hz}$, $J'=2.4\text{Hz}$, 1H), 6.86 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H)
MS (FAB+) m/z : 291 (MH^+)

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ について

理論値：C, 65.96; H, 7.27; N, 4.81

実測値：C, 65.73; H, 7.18; N, 4.77

実施例 9

7-(2,3-ジヒドロ-5-ヒドロキシ-2-オキソインドール-1-イル)ヘプタン酸の合成

−78℃で実施例8の目的化合物(500mg、1.72mmol)のジクロロメタン溶液(30mL)に三臭化ホウ素(1mL)を加え、室温まで昇温した後、同温で3時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、抽出液を水、飽和食塩水で洗浄し、乾燥した。溶媒を減圧下で留去し、得られた残渣をアセトン−ヘキサンにて再結晶することにより、表題の化合物を淡黄色結晶として400mg(収率84%)得た。

m.p 130~131℃(アセトン−ヘキサン)

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ: 1.26(b r. s, 4H), 1.40~1.55(m, 4H), 2.16(t, J=7.3Hz, 2H), 3.44(s, 2H), 3.55(t, J=7.3Hz, 2H), 6.61(d, J=8.3Hz, 1H), 6.71(s, 1H), 6.76(d, J=7.6Hz, 2H), 9.02(s, 1H), 11.96(s, 1H)

MS(FAB⁺) m/z: 277(MH⁺)

C₁₅H₁₉NO₄ について

理論値: C, 64.97; H, 6.91; N, 5.05

実測値: C, 64.80; H, 6.88; N, 4.90

実施例10

7-(2,3-ジヒドロ-2-オキソベンゾチアゾール-3-イル)ヘプタン酸の合成

2-ヒドロキシベンゾチアゾール(1.00g、6.62mmol)のDMF溶液(20mL)に、0℃で60%水素化ナトリウム(662mg、16.6mmol)を加えた後、7-プロ

モヘプタン酸 (1.66 g、7.94 mmol) の DMF 溶液 (10 mL) を滴下した。反応溶液を 70~80℃ で 1.5 時間攪拌した後、反応溶液を室温に戻し、1 M 塩酸 (100 mL) を加えた。この混合溶液を酢酸エチルにて抽出し、得られた有機層を水、
5 飽和食塩水で洗浄後、乾燥した。溶媒を減圧下で濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン-酢酸エチル) で精製した後、酢酸エチル-ジイソプロピルエーテル-ヘキサンにて再結晶することにより表題化合物を淡黄色の結晶として 477 mg (26%) 得た。

10

mp 73~74℃ (酢酸エチル-ジイソプロピルエーテル-ヘキサン)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.30~1.50 (m, 4H), 1.60~1.70 (m, 2H), 1.70~1.80 (m, 2H), 2.35 (t, $J=7.4$ Hz, 2H), 3.94 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J=7.8$ Hz, 1H)

20 MS (EI) m/z 279 (M^+)

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{S}$ について

理論値: C, 60.19; H, 6.13; N, 5.01

実測値: C, 60.37; H, 6.05; N, 4.62

25 実施例 11

7-(2,3-ジヒドロ-2-オキソベンゾオキサゾール-3-

イル) ヘプタン酸の合成

2-ヒドロキシベンゾオキサゾール (1.00 g、7.41 mmol) を用いる以外は、実施例 10 と同様の反応により、表題化合物を無色結晶として 562 mg (収率 29%) 得た。

mp 70 ~ 72 °C (酢酸エチル-ヘキサン)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.35 ~ 1.55 (m, 4H), 1.50 ~ 1.70 (m, 2H), 1.70 ~ 1.85 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.80 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 6.95 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.05 ~ 7.30 (m, 3H)

MS (EI) m/z 263 (M^+)

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ について

理論値: C, 63.87; H, 6.51; N, 5.32

実測値: C, 63.74; H, 6.44; N, 5.19

実施例 127-(2,3-ジヒドロ-2-オキソベンゾイミダゾール-1-イル) ヘプタン酸の合成

2-ヒドロキシベンゾイミダゾール (1.00 g、7.46 mmol) を用い、実施例 2 と同様の反応により、表題化合物を無色結晶として 356 mg (通算収率 18%) 得た。

mp 109 ~ 110 °C (酢酸エチル-ジイソプロパノール-ヘキサン)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.26 (br. s, 4H), 1.35 ~ 1.50 (m, 2H), 1.50 ~ 1.6

5 (m, 2H), 2.16 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.74 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 6.95~7.00 (m, 3H), 7.09 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 1H), 10.78 (s, 1H), 11.96 (s, 1H)

5 MS (EI) m/z : 262 (M^+)

$C_{14}H_{17}NO_4 \cdot 1/5 H_2O$ について

理論値: C, 63.24; H, 6.97; N, 10.54

実測値: C, 63.41; H, 6.99; N, 10.26

10 上記の実施例と同様にして以下の化合物を合成した。

実施例 13

7-(5-ブromo-2,3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル)ヘプタン酸

15 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.31~1.44 (m, 4H), 1.57~1.73 (m, 4H), 2.35 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.52 (s, 2H), 3.68 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 2H), 5.90 (brs, 1H), 6.70 (d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, 1H), 7.33~7.44 (m, 2H)

20 $C_{15}H_{18}NBrO_3$ について

理論値: C, 52.96; H, 5.33; N, 4.12

実測値: C, 52.97; H, 5.34; N, 4.46

実施例 14

25 7-(2,3-ジヒドロ-5-フルオロ-2-オキシインドール-1-イル)ヘプタン酸

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.32~1.44 (m, 4H), 1.59~1.72 (m, 4H), 2.35 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 3.52 (s, 2H), 3.69 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 6.73 (m, 1H), 6.93~7.04 (m, 2H)

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NFO}_3$ について

理論値: C, 64.50; H, 6.50; N, 5.01

実測値: C, 64.35; H, 6.61; N, 5.26

10 実施例 15

7-(2,3-ジヒドロ-5-メチル-2-オキシインドール-1-イル)ヘプタン酸

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.30~1.43 (m, 4H), 1.57~1.73 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.34 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.68 (t, $J=7.4\text{ Hz}$, 2H), 6.72 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 1H), 7.02~7.10 (m, 2H), 8.98 (br s, 1H)

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ について:

20 理論値: C, 69.79; H, 7.69; N, 5.09

実測値: C, 69.62; H, 7.55; N, 5.29

実施例 16

7-(2,3-ジヒドロ-5-ニトロ-2-オキシインドール-1-イル)ヘプタン酸

25 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.32~1.

4.8 (m, 4H), 1.48 ~ 1.80 (m, 4H), 2.36 (t, J=7.3 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.76 (t, J=7.3 Hz, 2H), 6.90 (d, J=8.7 Hz; 1H), 8.15 (s, 1H), 8.26 (d, J=8.3 Hz, 1H)

5 C₁₅H₁₈N₂O₅ について:

理論値: C, 58.82; H, 5.92; N, 9.15

実測値: C, 58.89; H, 5.84; N, 9.04

各実施例で合成された化合物と一般式 (I) 中で定義された Y、

10 n、R¹、R²、R³ との関係を表 1 に示した。

【表 1】

実施例	Y	n	R ¹	R ²	R ³
1	CH ₂	5	H	H	H
2	CH ₂	6	H	H	H
3	CH ₂	4	H	H	H
4	CH ₂	3	H	H	H
5	CH ₂	2	H	H	H
6	CH ₂	7	H	H	H
7	CH ₂	8	H	H	H
8	CH ₂	6	5-MeO	H	H
9	CH ₂	6	5-OH	H	H
10	S	6	H	H	H
11	O	6	H	H	H
12	NH	6	H	H	H

13	CH ₂	6	5-Br	H	H
14	CH ₂	6	5-F	H	H
15	CH ₂	6	5-Me	H	H
16	CH ₂	6	5-NO ₂	H	H

実施例 17

製剤例 1 (シクロデキストリン包接化)

実施例 1 ~ 16 において調製された各本発明化合物 17 mg
5 をエタノール 0.2 mL に溶解した溶液に β -シクロデキストリン
257 mg を水 6 mL に加温溶解して調製した溶液を加え、4
5 °C で混和した後に室温に戻し、沈殿を析出させた。これを 0 °C
で一夜放置後に濾過し、50 % エタノール水溶液で洗浄した後、
滅菌乾燥することにより、シクロデキストリン包接化物を得た。

10

実施例 18

製剤例 2 (リポソーム化)

卵黄ホスファチジルコリン 60 mg およびオレイルアミン 1
1 mg をクロロホルム 5 mL に溶解した後に、実施例 1 ~ 16 に
15 において調製された各本発明化合物 30 μ g をエタノール 100
 μ L に溶解したものを加え、ナス型フラスコに入れ、ロータリー
エバポレーターで溶媒を留去した。これに 0.1 M 等張リン酸緩
衝液 (pH 5) 1 mL を加え、振盪、超音波処理 (ソニケート)
および遠心分離した後、上清を 0.2 μ m のメンブレンフィルタ
20 ーで濾過し、リポソーム製剤を得た。

実施例 19

製剤例 3 (エタノール溶液)

実施例 1 ~ 16 において調製された各本発明化合物 500 μ g をエタノール 1 mL に溶解することにより、エタノール溶液剤を得た。これは用時、生理食塩液またはブドウ糖液等で希釈して用いる。

実施例 20

製剤例 4 (脂肪乳剤化)

精製大豆油 30 g に高度精製卵黄リン脂質 5.4 g、実施例 1 ~ 16 において調製された各本発明化合物 1.5 mg およびオレイン酸 0.72 g を加え、40 ~ 75 $^{\circ}$ C で加温溶解した。これに蒸留水 200 mL を加え、次いで、日本薬局方グリセリン 7.5 g を加え、20 ~ 40 $^{\circ}$ C の蒸留水で全量を 300 mL とし、ホモジナイザーで粗乳化した。さらにマントン-ガウリン型ホモジナイザーで高圧乳化し、均質化された微細の脂肪乳剤を得た。この乳剤の平均粒子径は 0.15 ~ 0.4 μ m であり、1 μ m 以上の粒子は含有しなかった。

実施例 21

20 薬効試験 1 : アミロイドベータペプチドによるアポトーシス誘導に対する本発明化合物の抑制効果

1) ラット大脳皮質ニューロンの培養

胎生 17 日齢のラット胎仔の大脳より皮質部位を氷冷下で摘出し、細断後、神経細胞分散液 (SUMILON) を用いて、細胞を分散させた。その後、予めポリエチレンイミンコートした培養フラスコに細胞を約 1.7×10^5 個 / cm^2 の密度で播き、

4日間培養後、次の試験に供した。なお、培養液は、B 2 7 サ
プリメント (1 / 5 0 容量)、2-メルカプトエタノール (2 7 .
5 μ M)、L-グルタミン酸 (2 5 μ M) およびグルタミン (0 .
5 m M) を添加した N e u r o b a s a l 培地 (ギブコ社製) を
5 用いた。

2) アミロイドベータペプチドによるアポトーシスの誘導と本発 明化合物の添加

アミロイドベータペプチド 2 5 - 3 5 (A β 2 5 - 3 5) を、1 m
10 M の濃度になるように蒸留水に溶解し、3 7 $^{\circ}$ C で約 1 週間インキ
ュベートし、A g e d - A β 2 5 - 3 5 を調製した。神経細胞へのア
ポトーシスの誘導は、1 0 μ M の A g e d - A β 2 5 - 3 5 を含む上
記培養液 (L-グルタミン酸は除く) に交換することによって行
った。また、本発明化合物を D M S O に溶解後、A g e d - A β
15 2 5 - 3 5 を添加すると同時に培養液に添加した。その終濃度は 0 .
1 または 1 μ M とした。

3) アポトーシスの検出

アポトーシス誘導の 2 4 時間後、細胞を P B S (-) で洗浄し、
20 1 % グルタルアルデヒド溶液 (P B S 溶液) を用いて、室温で 3
0 分間固定した。次に、P B S (-) で 2 回洗浄後、1 m M ヘキ
スト 3 3 3 4 2 溶液 (P B S 溶液) で約 2 分間反応させた。その
後、蛍光顕微鏡下で、任意の 4 ~ 6 視野について核クロマチンの
形態観察を行い、正常細胞数およびアポトーシス陽性細胞数 (ク
25 ロマチンの断片化または凝集を認める細胞) をカウントし、アポ
トーシス誘導抑制率 (%) を算出した。結果を表 2 に示す。表 2、

中の化合物番号は該化合物を合成した実施例の番号を示す。

【表 2】

化合物 (実施例)	アポトーシス誘導抑制率 (%)	
	0.1 μ M のとき	1 μ M のとき
1	2.9	4.9
2	3.5	5.1
3	3.5	5.0
6	3.8	5.0
7	3.6	4.7
10	4.4	4.2

5

実施例 2.2

薬効試験 2

実施例 1 ~ 16 において調製された本発明化合物をヒドロキシ
プロピルメチルセルロースに 30 mg / 2 mL となるように懸
濁後、正常ラット（雌性、体重約 200 g）に 30 mg / kg 体
重の投与量で経口投与したが、致死例は観察されなかった。

10

実施例 2.3

以下の原料を用いて錠剤を調整した。

15

実施例 1 ~ 16 において調製された本発明化合物 10 g、直打
用微粒 No. 209（富士化学社製） 110 g、結晶セルロース

60 g、CMCカルシウム 18 g、ステアリン酸マグネシウム 2 g。

上記成分（ステアリン酸マグネシウム以外のもの）を、混合機を用いて混合し、全質均等にした混合末にステアリン酸マグネシウムを添加して短時間（30秒）混合し、混合末を打錠して、1錠200mgの錠剤とした。

実施例 2.4

以下の原料を用いて、カプセル剤を調製した。

10 実施例 1～16において調製された本発明化合物 50 g、乳糖 930 g、ステアリン酸マグネシウム 20 g。

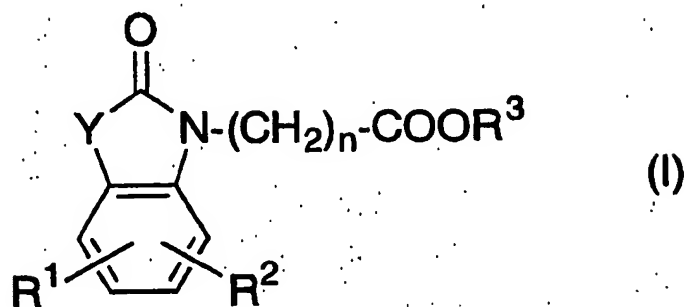
上記成分を均一に混合し、混合粉体をハードゼラチンカプセルに200mgずつ充填した。

15 産業上の利用可能性

本発明は細胞保護剤に関し、更に詳しくは細胞保護剤、特に脳細胞、神経細胞、腎細胞の保護に有用な薬剤に関する。

請求の範囲

1. 一般式 (I) で表わされる化合物、または、その薬学上有効な塩を有効成分とする細胞保護剤。



(式中、YはCH₂、S、O、COまたはNR⁴を、nは1～10の整数を、R¹、R²は各々H、アルキル、OH、アルコキシ、ハロゲン、ニトロ、アミノまたはトリフルオロメチルを、R³はHまたはアルキルを、R⁴はH、アルキルまたはアラルキルを表す)

2. 一般式 (I) の化合物に於いて、YはCH₂またはS、nが4～8の整数、R¹、R²が各々Hである請求項1の細胞保護剤。

3. 一般式 (I) の化合物が、6-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)ヘキサン酸、7-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)ヘプタン酸、5-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)ペンタン酸、8-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)オクタン酸、9-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソインドール-1-イル)ノナン酸および7-(2, 3-ジヒドロ-2-オキソベンゾチアゾール-3-イル)ヘプタン酸からなる群から選ばれる請求項1の細胞保護剤。

4. 化合物の薬学上有効な塩が、アルカリ土類金属塩である請求項 1 ～ 3 の何れか一項の細胞保護剤。

5. 脳細胞、神経細胞、および腎細胞の保護に有用な請求項 1 ～ 4 の何れか一項の細胞保護剤。

5 6. 固形剤または液剤である請求項 1 ～ 5 の何れか一項の細胞保護剤。

7. 投与量が、成人 1 日あたり 0.1 ～ 100 mg である請求項 1 ～ 6 の何れか一項の細胞保護剤。

8. 5- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル) ペンタン酸、6- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル) ヘキサン酸、7- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル) ヘプタン酸、8- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル) オクタン酸、9- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシインドール-1-イル) ノナン酸および 7- (2, 3-ジヒドロ-2-オキシベンゾチアゾール-3-イル) ヘプタン酸からなる群から選ばれる化合物、または、その薬学上有効な塩。

10

15

9. 請求項 1 の中の一般式(I)で表される化合物、または、その薬学上有効な塩を患者に投与することなからなる細胞を保護する方法。

20

10. 細胞保護剤を調製するための、請求項 1 中の一般式(I)で表される化合物、または、その薬学上有効な塩の使用。